



TITLE:

STUDIES ON MECHANISMS OF  
FORMATION OF BARLEY ZYMOGEM  
 $\beta$ -AMYLASE AND ITS ACTIVATION(  
Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

Shinke, Ryu

---

CITATION:

Shinke, Ryu. STUDIES ON MECHANISMS OF FORMATION OF BARLEY ZYMOGEM  $\beta$ -AMYLASE AND ITS ACTIVATION. 京都大学, 1971, 農学博士

ISSUE DATE:

1971-05-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/213672>

RIGHT:

氏 名	新 家 龍 しん け りう
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 311 号
学位授与の日付	昭 和 46 年 5 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	<b>STUDIES ON MECHANISMS OF FORMATION OF BARLEY ZYMOGEN <math>\beta</math>-AMYLASE AND ITS ACTI- VATION</b> (大麦中の Zymogen $\beta$ -amylase の生成機構ならびに活性化機構に 関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 緒 方 浩 一    教 授 秦   忠 夫    教 授 広海啓太郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は大麦および麦芽中の zymogen  $\beta$ -amylase に関する詳細な研究結果を取りまとめたものである。

大麦粉末を 2M 尿素を含む M/15 リン酸緩衝液で抽出後、硫酸 0.6 飽和沈澱部を集め透析し、Sephadex G-75 によるゲルろ過によって 4 区分を得た。第 1 および第 2 区分に zymogen  $\beta$ -amylase が、第 3 区分に active  $\beta$ -amylase が存在し、第 4 区分には酵素は含まれていなかった。この第 1 および第 2 区分の zymogen  $\beta$ -amylase 標品につき再クロマトグラフィーをくり返し、超遠心的および電気泳動的に均一と認める酵素標品を得た。これらは著者がはじめて分離に成功した zymogen  $\beta$ -amylase である。

第 1 区分の酵素は、パパインまたはメルカプトエタノール単独では部分的に活性化されるにすぎず、両者をあわせてはじめて完全に活性化され、第 2 区分の酵素は、パパインによってはほとんど活性化されず、メルカプトエタノールによってほぼ完全に活性化される。

これらの結果から第 2 区分の酵素は  $\beta$ -amylase の S-S 結合による酸化的重合物であり、その分子量から見て 3 分子の active  $\beta$ -amylase からなる homopolymer type の zymogen  $\beta$ -amylase であろうと推定した。また第 1 区分の酵素は尿素溶液に可溶性の貯蔵性たんぱく質と active  $\beta$ -amylase の結合した heteropolymer type の zymogen  $\beta$ -amylase であろうと推定した。

さらに大麦発芽中における zymogen  $\beta$ -amylase の生体内活性化機構を解明するために、たんぱく質分解作用に関与する麦芽 protease, S-S 結合の還元的開裂作用を触媒する protein disulfide reductase の挙動を追跡した。その結果、麦芽 protease の生成が zymogen  $\beta$ -amylase の活性化と密接な関係があることを認めた。一方 protein disulfide reductase については、未発芽大麦中にはほとんど検出されず、発芽 2 日目から 5 日目ごろまでに急増すること、部分精製した本酵素を第 2 区分の酵素に作用させると速やかな活性化にともなって SH 量の増加することが認められた。

これらの結果から、zymogen  $\beta$ -amylase の生体内活性化機構には麦芽 protease とともに protein

disulfide reductase が重要な役割をもつものと結論した。

さらにこれらの結果にもとずき total  $\beta$ -amylase の新しい測定法を提案した。従来、大麦のパパイン抽出液の示す amylase 活性が active  $\beta$ -amylase と zymogen  $\beta$ -amylase の和を示す total  $\beta$ -amylase 活性として麦芽製造上の指標とされてきた。しかし上記の実験結果から、パパインのみによっては total  $\beta$ -amylase は測定できないことが判明した。著者は従来の測定法にかかわるものとして、0.1% パパインを含む 0.2M メルカプトエタノール溶液を用いる total  $\beta$ -amylase の新測定法が真の値を示すことを明確にした。

### 論文審査の結果の要旨

麦芽は醸酵工業にとって重要な原料であり、とりわけ amylase 源として重要な役割をもっている。本論文は、大麦および麦芽中の amylase、特に zymogen  $\beta$ -amylase の単離、存在形態、活性化機構、新定量法などについて詳細に研究したものである。

従来、大麦中の zymogen  $\beta$ -amylase は水に不溶であり、パパインなどのたんぱく分解酵素によって可溶化、活性化されるという説と、S-S 結合の還元的開裂によって活性化されるという両説があり、その詳細については明確にされていなかった。著者は大麦粉末を 2M の尿素を含みリン酸緩衝液で抽出し、硫酸沈澱、Sephadex G-75 によるゲルろ過によって2区分の zymogen  $\beta$ -amylase を得て、おのおの単一たんぱく質まで精製した。この2種の zymogen  $\beta$ -amylase は著者がはじめて単離したものである。

この2つの区分中の酵素を詳細に追求し、第1の区分の酵素は貯蔵性のたんぱく質と active  $\beta$ -amylase が結合して生成した heteropolymer type の zymogen  $\beta$ -amylase で、その大部分はパパインによって活性化されること、また第2区分の酵素は3分子の active な  $\beta$ -amylase が S-S 結合によって重合した homopolymer type の zymogen  $\beta$ -amylase でメルカプトエタノールによって活性化され、パパインでは活性化されないことを明らかにした。

また両酵素の生体内の活性化機構を解明するために、麦芽中の protease と protein disulfide reductase の活性を大麦発芽中の経過を追って追求し、これらの酵素によって2種の zymogen  $\beta$ -amylase が、それぞれ別の機構が活性化されることを証明した。

さらに以上の結果にもとずき、大麦中の total  $\beta$ -amylase の新しい定量法を確立した。すなわち、従来は大麦のパパイン抽出液中の  $\beta$ -amylase 活性が  $\beta$ -amylase と zymogen  $\beta$ -amylase の総和として麦芽製造中の指標とされていたが、著者は0.1%のパパインを含む0.2M メルカプトエタノールで抽出することによってはじめて真の total  $\beta$ -amylase が定量できることを明確にした。

以上のように、本論文は大麦および麦芽の zymogen  $\beta$ -amylase について多くの新しい知見を加えたもので、酵素化学、植物生理学および醸酵工業に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。